

# ОБЗОРЫ

А.М. Моисеева, Н.В. Железняк, А.Г. Генералова, Д.В. Моисеев

## ФИТОАЛЕКСИН РЕСВЕРАТРОЛ: МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ, МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Витебский государственный медицинский университет

*С момента обнаружения выраженного антиоксидантного действия ресвератрола в литературе появилось значительное количество работ, посвященных методам определения, фармакокинетике и фармакологической активности данного полифенола. Используются хроматографические и спектроскопические методы его идентификации в различном растительном сырье и биоматериалах. На сегодняшний день установлено кардиопротекторное, противовоспалительное, иммуномодулирующее, эстрогеноподобное, противоопухолевое, нейропротекторное и антимикробное действие ресвератрола. Полученные данные позволяют рассматривать ресвератрол как перспективное терапевтическое средство; к настоящему времени в мире начато проведение широкомасштабных клинических испытаний ресвератрола.*

*Ключевые слова: ресвератрол, хроматография, антиоксидант, кардиопротекторное действие, апоптоз, клинические испытания.*

### ВВЕДЕНИЕ

Ресвератрол – природное биологически активное вещество из группы полифенолов, выделенное из винограда темных сортов и виноградных косточек, обладающее доказанными антиканцерогенными, гепатопротекторными и противовоспалительными свойствами [1–3]. Антиоксидантные свойства фенольных соединений красного вина (катехины, ресвератрол, кверцетин) в десятки раз превосходят «золотой стандарт» среди антиоксидантов – токоферол (витамин Е). Среди многочисленных позитивных эффектов ресвератрола – нормализация клеточного обмена и усиление транспорта кислорода, регуляция жирового обмена в печени, укрепление сосудистой стенки и снижение ее проницаемости, улучшение реологических показателей крови, противоаллергическое, радиопротекторное, противовоспалительное, противораковое и сосудорасширяющее действие [1–3].

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕСВЕРАТРОЛА В РАСТЕНИЯХ И БИОЖИДКОСТЯХ

По химической структуре ресвератрол (3,4',5-тригидроксистильбен) отно-

сится к группе растительных полифенолов. Он существует в виде *cis*- и *trans*-стереоизомера (рисунок 1). В природе чаще встречается в виде гликозидированных форм. Реже встречаются птеростильбены, содержащие 1–2 метиловые группы; *trans*-ресвератрол-3-сульфат, содержащий сульфатную группу [1]. Ресвератрол может синтезироваться в растениях при высушивании, воздействии ультрафиолетового излучения, озона, тяжелых металлов [2, 3]. Доказана активация синтеза ресвератрола в ответ на грибковые инфекции растений и его фунгицидное действие [4, 5]. Под действием солнечных лучей *trans*-форма переходит в *cis*-форму.

Впервые ресвератрол был выделен из корней чемерицы белой (*Veratrum grandiflorum* O. Loes) в 1940 году [1, 6]. Интерес к этому соединению значительно возрос после 1992 года, когда было доказано его кардиопротекторное действие [1]. С этого момента количество работ, посвященных изучению и описанию свойств ресвератрола, достигло нескольких тысяч.

В 1963 году ресвератрол был получен из корней горца гребенчатого (*Polygonum cuspidatum*) [1, 6]. Это растение, широко применяемое в традиционной японской

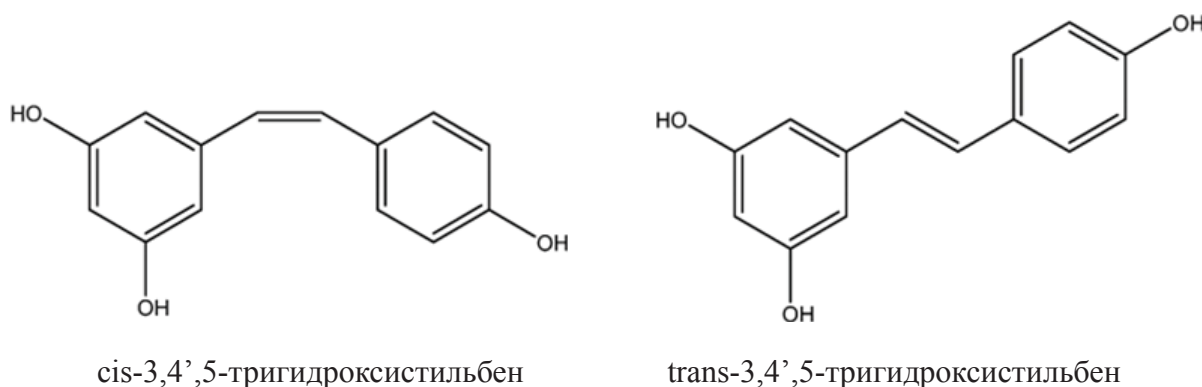


Рисунок 1 – Структурная формула ресвератрола

и китайской медицине, на сегодняшний день является самым богатым источником ресвератрола [3]. Его содержание в корнях *Polygonum cuspidatum* достигает 2,8 мг на грамм сухого веса [7, 8]. Кожица винограда (*Vitis vinifera L.*) содержит от 50 до 100 мкг ресвератрола на грамм сухого веса [1, 3, 9, 10], косточки и плодоножки – около 6 мкг/г [10]. В красном вине обнаружен ресвератрол в количестве 0,2–7 мг/л в зависимости от сорта винограда [3, 10, 11]. Опубликованы данные об определении в отдельных сортах вин 13,4 мг/л ресвератрола (Pinot noir, Австралия, [12]) и 14,3 мг/л (Merlot, Венгрия, [13]). Сок красного винограда содержит 0,5 мг/л ресвератрола [12].

Было установлено, что помимо винограда и красного вина, *trans*-ресвератрол содержится в орехах, какао-бобах, в ягодах, содержащих растительные пигменты и комплекс антиоксидантов (шелковица, черника, голубика, клюква, земляника и др.), в листьях и цветках орхидеи, эвкалипта, гнетума и других растений [1, 3, 14].

Для обнаружения, идентификации и количественного анализа ресвератрола и его производных используются хроматографические (ВЭЖХ, газовая хроматография, ТСХ) и спектроскопические методы (спектрофотометрия в ультрафиолетовой области, масс-спектрометрия) [5, 15–20].

Наиболее распространенным является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), применяемый для анализа полифенолов в растительном сырье [6, 7, 9, 11, 14], соке [10], вине [9–13, 20], сыворотке крови [19, 21], моче [21] и других биоматериалах. Используются нормально- и обращенно-фазовый вари-

анты ВЭЖХ [10, 11, 13] с ультрафиолетовым [13, 15], масс-спектрометрическим [15, 17], реже с флуориметрическим и электрохимическим детектированием [4]. Описаны методики газохроматографического определения ресвератрола [16, 18], однако они не нашли широкого распространения.

В 1992 году финскими учеными при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ ресвератрол был обнаружен в коре сосны (*Picea abies*). Общее количество обнаруженных стильбенов и их гликозидов составило 1–6% от сухой массы. При анализе стильбеновых фракций ресвератрол составил 4,2% от суммы площадей всех пиков [22]. Японские ученые извлекли ресвератрол из ревеня корейского (*Rheum undulatum*) [23].

Эстонские исследователи обнаружили *trans*-ресвератрол при ВЭЖХ-анализе содержания гидроксистильбенов в корнях ревеня черноморского (*Rheum rhaponticum*). При этом использовалась обращенно-фазовая ВЭЖХ с ультрафиолетовой и тандемной масс-спектрометрией [24].

В 2008 году бельгийскими учеными был проведен качественный анализ восьми сортов местного пива. *Trans*-ресвератрол был обнаружен в четырех из них в концентрации, превышавшей 5 мкг/л. В качестве методов анализа использовали обращенно-фазовую ВЭЖХ после проведения твердофазной экстракции, а также газовую хроматографию с масс-спектрометрическим детектированием в качестве альтернативного метода [25].

В 2011 году в Канаде был проведен хроматографический анализ 24 ви-

дов фруктов при помощи ВЭЖХ с масс-спектрометрией, в результате которого удалось идентифицировать серотонин, мелатонин, *trans*- и *cis*-ресвератрол. Наибольшее количество ресвератрола и его производных обнаружено в ягодах винограда [17].

Армянские ученые провели скрининговые исследования по установлению концентрации ресвератрола в различных сортах армянского винограда, винах и винодельческих отходах [26].

Следует отметить, что для выделения ресвератрола и сравнительного анализа его содержания используются, как правило, местные растительные источники и винодельческая продукция. Учитывая перспективность такого подхода, нами была проведена оценка содержания ресвератрола в источниках растительного происхождения, доступных к применению в Республике Беларусь. В результате ВЭЖХ-анализа были выявлены образцы местных сортов винограда с содержанием ресвератрола до 2,55 мг/л экстракта [27]. Кроме того, ресвератрол удалось обнаружить в корнях горца татарского (*Polygonum tataricum*) [28].

Кроме идентификации стильбенов в источниках природного происхождения, хроматографические методы активно используются для изучения биодоступности и фармакокинетики ресвератрола в организме животных и человека.

Установлено, что гликозидированный ресвератрол обладает лучшей растворимостью и стабильностью, хорошо всасывается в пищеварительном тракте человека и метаболизируется в печени [29] с образованием водорастворимых конъюгатов: *trans*-ресвератрол-3-О-глюкуронида и *trans*-ресвератрол-3-О-сульфата, экскретируемых с мочой [30]. Если период полураспада ресвератрола в плазме крови равен 8–14 минутам, то период полураспада его метаболитов составляет около 9,2 часов [30]. По сравнению с другими известными фенольными соединениями (кверцетин, катехин), *trans*-ресвератрол отличается лучшей биодоступностью при пероральном применении [18]. Наибольшее содержание ресвератрола в сыворотке крови после применения *per os* в дозе 1 мг/кг наблюдалось через 1,5 часа (2,7 мг в объеме плазмы), экскреция с мочой продолжалась более 10 часов и составила

26% от полученной дозы. При пероральном употреблении ресвератрола в меньших дозах (0,03 мг/кг, 0,05 мг/кг) его не удалось обнаружить в сыворотке крови. Выделение с мочой проходило в течение первых 2–3 часов (экскретировалось 52% и 34% от полученной дозы, соответственно). У мышей после интрагастрального введения вещества (2 мг/кг) пик концентрации в сыворотке крови составил 1,2 мкмоль/л через 4 часа; после введения в дозе 5 мг/кг – 1,5 мкмоль/л через 4 часа. При употреблении мышами высококонцентрированного (18,4%, 36,8%) виноградного сока ресвератрол в сыворотке обнаружен не был, а содержание его в моче не превышало 2% и 2,3% от полученной дозы, соответственно. Таким образом, биодоступность содержащихся в соке гликозидов оказалась ниже, чем чистого агликона. Вероятно, адсорбцию ресвератрола могут ухудшать гликозидазы сока и высокий уровень сахара в нем [21].

#### ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ РЕСВЕРАТРОЛА

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что биологические эффекты ресвератрола могут сильно отличаться в разных клетках и тканях. Для изучения в опытах *in vitro* брались концентрации ресвератрола от 32 нмоль/л до 100 мкмоль/л, в опытах *in vivo* – от 100 нг до 1500 мг на кг массы тела [1]. В результате доказано, что *trans*-ресвератрол обладает многогранным влиянием на органы и ткани человека.

Предполагается, что ресвератрол играет ключевую роль в феномене, получившем название «французский парадокс». Суть его состоит в том, что во Франции, где население отдает предпочтение продуктам с высоким содержанием жиров, уровень сердечно-сосудистых заболеваний существенно ниже, чем в других развитых странах. В результате длительных исследований было установлено, что позитивное влияние на сердечно-сосудистую систему человека оказывает регулярное умеренное потребление красного вина, богатого фенольными соединениями, в том числе ресвератролом. Вино и экстракт винограда снижают тромбообразование, улучшают реологические свойства крови, расслабляют эндотелий

сосудов, снижают уровень холестерина и триглицеридов в крови, предупреждая развитие атеросклероза, проявляют антиоксидантную и противовоспалительную активность. Множественное защитное воздействие ресвератрола на сердечно-сосудистую систему способствует развитию новых терапевтических стратегий в лечении и профилактике атеросклероза и артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, острого коронарного синдрома, тромбоза и метаболического синдрома [1, 5, 6, 31–38].

На молекулярном уровне кардиопротекторное действие ресвератрола обусловлено его способностью увеличивать синтез оксида азота (NO) *in vivo*. Как стало известно, ресвератрол является индуктором фермента NO-синтазы [32]. В эксперименте на модели ишемии-реперфузии сердца выявлено предупреждение реперфузионных нарушений ритма благодаря влиянию полифенола и, как результат, снижение смертности. Введение ресвератрола предупреждало количество и длительность возникновения желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции, а также повышало содержание NO и снижало содержание лактатдегидрогеназы в крови каротидного синуса [39, 40]. Увеличение синтеза оксида азота под действием ресвератрола свидетельствует об эндотелиопротективных свойствах данного вещества. Подобные опыты проводились с моделями ишемии-реперфузии почек и головного мозга, где ресвератрол также предупреждал ишемические повреждения клеток [41]. Кроме того, выявлена способность ресвератрола наращивать концентрацию внутриклеточных антиоксидантов, таких как глутатион, в моноцитах и лимфоцитах крови [42, 43].

С антиоксидантной активностью ресвератрола тесно связано и его противовоспалительное действие. Ресвератрол снижал экспрессию провоспалительных цитокинов в эндотелии сосудов [44], ингибировал активность фактора некроза опухолей (ФНО- $\alpha$ ) и С-реактивного белка в плазме крови [45]. В эксперименте на клеточной культуре HL-60 ресвератрол ингибировал 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат (ТФА) – индуктор образования свободных радикалов [46]. Также ресвератрол снижал продукцию активных форм кислорода макрофагами под дей-

ствием ТФА [47]. Иммуномодулирующий эффект ресвератрола выражался в угнетении активности Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, снижении их пролиферации, продукции антител и секреции лимфокинов [48]. При этом происходило подавление экспрессии CD28, CD80 и усиление выброса интерлейкина 10 (ИЛ 10). Иммуномодулирующие свойства ресвератрола предлагается использовать в коррекции аутоиммунных заболеваний, аллергии и реакций отторжения трансплантата.

Первоначально было показано, что ресвератрол является фитоалексином – растительным гормоном с эстрогеноподобным действием – из-за его структурного сходства с диэтилстилбестролом. Благодаря этому ресвератрол может связываться с рецептором эстрогена, активируя транскрипцию эстрогензависимых генов [49–51]. Доказано, что в высоких концентрациях ресвератрол является агонистом эстрадиола и эффективно снижает уровень холестерина сыворотки крови. В эксперименте с фолликулами крыс обнаружено, что ресвератрол способен задерживать наступление климакса [52]. Фитоэстрогенная активность ресвератрола обуславливает его положительный эффект при остеопорозе, связанном с менопаузой. Этот полифенол одновременно снижает число адипоцитов и увеличивает число остеобластов в костной ткани, стимулируя остеогенез [53].

Антитромботический эффект ресвератрола, помимо эстрогеноподобного влияния на уровень холестерина, обеспечивается также снижением агрегации коллагена, тромбина и аденозиндифосфата (АДФ) в эндотелии капилляров [54]. При экспериментальной гиперхолестеринемии у кроликов вводимый ресвератрол блокировал АДФ-индуцированное бляшкообразование в сосудах.

М.С. Pinto с соавт. показали, что ресвератрол способен ингибировать активность липоксигеназы [55]. Блокируя липоксигеназу и циклооксигеназу (ЦОГ), *trans*-ресвератрол снижает синтез метаболитов арахидоновой кислоты: гидроксигептадекатетраеновой кислоты (ННТ), гидроксизйкозатетраеновой кислоты (12-НЕТЕ), тромбосана В<sub>2</sub> (ТХВ<sub>2</sub>) [56].

При исследовании *trans*-ресвератрола было клинически подтверждено активирующее действие последнего на ген

SIRT1, который иногда называют геном долголетия [57, 58]. По мнению ученых, ресвератрол стимулирует экспрессию гена SIRT1, тем самым усиливая образование его продуктов – деацетилаз гистоновых белков. Ген SIRT1 играет ключевую роль в регуляции обмена липидов и глюкозы, контролирует секрецию инсулина, воспаление, оксидативный стресс и эндотелиальные функции. Благодаря увеличению количества митохондрий в клетках организма, *trans*-ресвератрол способен повышать энергетический потенциал и увеличивать сенсомоторные функции организма. Кроме того, доказано, что посредством активации SIRT1 ресвератрол способен влиять на патогенез жирового гепатоза печени. Y. Colak с соавт. [59] считают, что ресвератрол может быть перспективным фармакотерапевтическим средством при данной патологии. Рядом исследователей изучается положительное действие ресвератрола на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы посредством активации SIRT1 [60], что может играть важную роль в профилактике сахарного диабета и метаболического синдрома. N.R. Sundaresan с соавт. [61] показано, что активация SIRT1 способствует защите кардиомиоцитов от ишемических повреждений, регулирует их рост и стрессоустойчивость, что, несомненно, подтверждает кардиопротекторный эффект ресвератрола.

В 1997 году M. Jang с соавт. обнаружили, что применение ресвератрола ингибирует развитие рака кожи у мышей [62]. Данный факт послужил толчком к мировому изучению противоопухолевой активности ресвератрола. В дальнейшем было выявлено, что ресвератрол снижает риск развития неоплазий, предотвращая развитие злокачественных новообразований, а также способен уничтожать атипичные клетки и активизировать регенерацию здоровых клеток [1]. К примеру, ресвератрол ингибировал рост клеток оральной сквамозной карциномы [63], а также злокачественной меланомы B16-BL6 [64]. На культуре ткани молочной железы мышей установлено, что ресвератрол действует на три стадии карциногенеза: инициацию, промоцию, прогрессию [62]. Проапоптотический эффект ресвератрола в отношении опухолевых клеток *in vitro* связывают с регуляцией внутриклеточных белков [65, 66]. При изучении

рака толстой кишки у крыс ресвератрол индуцировал экспрессию проапоптотического белка Вах в поврежденных участках кишки [67]. Ресвератрол запускал апоптоз нескольких линий опухолевых клеток, усиливая их чувствительность к лиганду TRAIL (связанный с фактором некроза опухолей апоптоз-индуцирующий лиганд), при этом чувствительность нормальных фибробластов человека оставалась неизменной.

В проведенных в 2011 году F.F. Radwan с соавт. исследованиях ресвератрол активировал HLA II-опосредованное распознавание В-клеток злокачественной лимфомы клетками-киллерами, что потенциально может быть использовано в иммунотерапии В-клеточной лимфомы [68]. S.I. Khan с соавт. рассматривают возможность включения ресвератрола в схемы лечения рака молочной железы [69, 70]. Кроме того, антиканцерогенный эффект ресвератрола наблюдался у больных раком прямой кишки [71], простаты [72], легких, печени, желудка и поджелудочной железы [73–75].

Изучая молекулярные механизмы индукции апоптоза, H.Y. Lin с соавт. [76] продемонстрировали, что стильбен-индуцированный апоптоз раковых клеток обусловлен нахождением мембранного рецептора ресвератрола вблизи аргинин-глицин-аспартат (RGD) сайта интегрина  $\alpha(v)\beta3$ . Ресвератрол *in vitro* вызывал активацию и нуклеарную транслокацию митоген-активируемой протеинкиназы (ERK1/2) с последующим фосфорилированием Ser-15 белка p53, и апоптоз. Пептид RGD блокировал это действие ресвератрола. Под действием ресвератрола ЦОГ-2 аккумулировалась в ядре, где взаимодействовала с белками pERK1/2 и p53. Проапоптотическое действие ресвератрола в раковых клетках включало индукцию внутриядерного накопления ЦОГ-2, приводящую к активации белка p53.

D. Delmas с соавт. обнаружили, что ресвератрол взаимодействует с рецепторами апоптоза на поверхности богатых церамидами участков мембраны, отвечающих за формирование апоптоз-индуцирующего сигнального комплекса в клетке. Индуцируя апоптоз, ресвератрол активирует церамидо-сфингомиелиновый путь, что приводит к накоплению церамидов и последующей активации киназного ка-

скада. Кроме этого, ресвератрол может запускать альтернативные механизмы клеточной гибели, такие как аутофагия, репликативное старение или митотическая катастрофа опухолевых клеток [77].

Данные E. Marzetti с соавт. свидетельствуют, что ресвератрол способен снижать апоптоз миоцитов скелетной мускулатуры. Авторы считают, что подобная редукция апоптоза может стать эффективным способом предупреждения и лечения саркопении – снижения массы и функциональных способностей мышц у лиц пожилого возраста [78].

E. Usta с соавт. изучали действие ресвератрола на клетки миокарда в процессе принудительной ишемии-реперфузии *in vitro*. Опытные пробы экспонировали с 10  $\mu$ M раствором ресвератрола с продолжительностью ишемии-реперфузии 30/10, 60/20, 120/40 минут. Было обнаружено достоверное снижение апоптоза кардиомиоцитов в сравнении с контролем. Параллельно при помощи ПЦР-анализа было выявлено снижение экспрессии генов, отвечающих за выработку мозгового натрийуретического пептида (BNP), ядерного фактора NF- $\kappa$ B2, E-селектина, тропонина и ФНО- $\alpha$  кардиомиоцитами *in vitro*. По мнению авторов, такой эффект полифенола может быть использован в кардиохирургии для предотвращения ишемических повреждений миокарда [79].

Проведенные в последние годы исследования показывают, что ресвератрол снижает риск возникновения нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона [80–82]. Так, при болезни Альцгеймера данный полифенол ингибирует агрегацию  $\beta$ -амилоида [83]. Ресвератрол в 7 раз увеличивает активность фермента киназы митоген-активированной протеинкиназы (МАП), что способствует восстановлению нервных клеток [31]. В экспериментах показано, что ресвератрол ускоряет регенерацию нервных связей в поврежденных участках мозга, помогая восстановить когнитивные способности у неврологических больных или пожилых людей [31]. Ресвератрол предлагается использовать в качестве нейропротектора при эпилепсии с целью предупреждения хронизации заболевания и когнитивных нарушений [84].

Кроме этого, ресвератрол обладает не-

которой антибактериальной, противовирусной и противогрибковой активностью. Согласно данным M.M. Chan с соавт. [85], ресвератрол в концентрации 171–342 мг/мл ингибировал рост *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, в концентрации 25–50 мг/мл – пяти штаммов грибков-дерматофитов. В концентрации 15 мг/мл ресвератрол прекращал ползучий рост *Proteus mirabilis*, снижая его вирулентность действием на белок-трансмиссер сигнальной системы бактерий [86]. Ресвератрол ингибировал рост шестнадцати штаммов *Helicobacter pylori in vitro*, в том числе штамм, несущий цитотоксин-ассоциированный ген (CagA+) [87, 88]. Полифенол в низких концентрациях (1–10 мкмоль/л) усиливал фагоцитоз *Candida albicans* макрофагами [89]; в концентрации более 10 мкмоль/л уменьшал фагоцитоз *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, действуя как через TLR-2 рецепторы моноцитов, так и независимо от них. Авторы считают, что снижение фагоцитоза имеет позитивный противовоспалительный эффект при бактериальных инфекциях [90]. Ресвератрол оказался синергистом по отношению к аналогам нуклеозидов при ингибировании вируса иммунодефицита человека [91].

#### КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ РЕСВЕРАТРОЛА

Все описанные исследования свидетельствуют о потенциальном терапевтическом эффекте ресвератрола при широком спектре нозологий. Однако, чтобы использовать полученные экспериментальные результаты в клинической практике, требуются точные данные о безопасности, фармакокинетике, фармакодинамике и, в конечном счете, клинической эффективности ресвератрола. К настоящему времени сообщается о проведении до 50 клинических испытаний ресвератрола, из которых 13 объявлены завершенными. Большинство клинических испытаний сфокусированы на характеристике фармакокинетики и метаболизма ресвератрола. Кроме того, изучались механизмы действия и его безопасность при разных режимах дозирования [92].

В частности, исследовалась эффективность и безопасность ресвератрола

при сердечно-сосудистых заболеваниях при приеме обогащенного экстракта винограда (до 700 мг/сут) в течение года. У больных сахарным диабетом 2 типа исследован эндотелиопротекторный эффект ресвератрола при дозировке до 270 мг/сут. В Калифорнийском университете проведены клинические испытания ресвератрола у больных раком толстой кишки. С целью установления ингибирующего эффекта полифенола на сигнальный путь активации опухолевого роста ресвератрол получали шестеро больных в дозах до 160 мг/сут в течение двух недель. Для подтверждения влияния ресвератрола на церебральное кровообращение и когнитивные функции проводились его испытания у здоровых людей (принимали 250–500 мг/сут), при болезни Альцгеймера (215 мг/сут), а также у боксеров после черепно-мозговой травмы (500 мг/сут). К настоящему времени опубликованы данные о повышении уровня гемоглобина в сосудах лобной доли у здоровых людей, при этом когнитивные способности оставались без изменений [92].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клинические испытания ресвератрола будут активно проводиться исследователями разных стран в течение ближайших 10–15 лет. Предполагается, что полученные данные позволят создать лекарственные средства на основе ресвератрола, которые будут применяться в схемах лечения самых различных патологических состояний, включая онкологические и аутоиммунные заболевания, поражения ЦНС и сердечно-сосудистой системы.

### SUMMARY

A.M. Moiseeva, N.V. Zheleznyak,  
A.G. Generalova, D.V. Moiseev  
PHYTOALEXIN RESVERATROL:  
ASSAYS, MECHANISMS OF ACTION,  
PERSPECTIVE OF CLINICAL USE

Since the time of discovery of potent anti-oxidant activity of resveratrol a large set of data concerning assays, pharmacokinetics, and biological action of this stilbene substance was published. Vast number of chromatographic and spectral analysis methods for its determination in various plants and other biomaterials is used now. It has

been found that resveratrol demonstrates evident cardioprotective, anti-inflammatory, neuroprotective, immune modulating, estrogen-like, anti-tumor, and anti-microbial effects. The obtained data allows to consider resveratrol as perspective therapeutic substance. Large-scale clinical trials of this drug are in progress now.

Keywords: resveratrol, chromatography, anti-oxidant, cardioprotective effect, apoptosis, clinical trials.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Baur, J.A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence / J.A. Baur, D.A. Sinclair // Nat. Rev. Drug Discov. – 2006. – № 5. – P. 493–506.
2. Bavaresco, L. Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine / L. Bavaresco // Drugs Exp. Clin. Res. – 2003. – № 29. – P. 181–187.
3. Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer / D. Delmas [et all] // Curr. Drug Targets. – 2006. – № 7. – P. 423–442.
4. Fast and local assessment of stilbene content in grapevine leaf by in vivo fluorometry / A. Poutaraud [et all] // J. Agric. Food Chem. – 2007. – № 55. – P. 4913–4920.
5. Das, D.K. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine / D.K. Das, N. Maulik // Mol. Intervent. – 2006. – Vol. 6. – № 1. – P. 36–47.
6. Аналитическая характеристика ресвератрола / Г.В. Васильев [и др.] // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2007. – № 3. – С. 90–96.
7. Chu, X. Preparative isolation and purification of five compounds from the Chinese medicinal herb *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc by high-speed counter-current chromatography / X. Chu, A. Sun, R. Liu // J. Chromatogr. A. – 2005. – № 1097. – P. 33–39.
8. Du, F.Y. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction *trans*-resveratrol from rhizma *Polygoni cuspidati* / F.Y. Du, X.H. Xiao, G.K. Li // J. Chromatogr. A. – 2007. – № 1140. – P. 56–62.
9. Method for the quantitative extraction of resveratrol and piceid isomers in grape berry skins. Effect of powdery mildew on the stilbene content / A.I. Romero-Perez [et all] // J. Agric. Food Chem. – 2001. – № 49. – P. 210–215.

10. Direct HPLC analysis of quercetin and *trans*-resveratrol in red wine, grape, and winemaking byproducts / M. Careri [et all] // J. Agric. Food Chem. – 2003. – № 51. – P. 5226–5231.
11. Study of polyphenols in grape berries by reversed-phase high-performance liquid chromatography / O. Palomino [et all] // J. Chromatogr. A. – 2000. – № 870. – P. 449–451.
12. Opie, L.H. The red wine hypothesis: from concepts to protective signaling molecules / L.H. Opie, S. Lecour // Eur. Heart J. – 2007. – № 28. – P. 1683–1693.
13. A validated HPLC method for the quantitative analysis of *trans*-resveratrol and *trans*-piceid in Hungarian wines / L. Marc [et all] // J. Chromatogr. Sci. – 2005. – Vol. 43. – № 9. – P. 445–449.
14. Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts / B.W. Bolling [et all] // Nutr. Res. Rev. – 2011. – Dec 12. – P. 1–32.
15. Weinger, V. Comparison of methods for determination of polyphenols in wine by HPLC-UV/VIS, LC/MS/MS and spectrophotometry / V. Weinger, M. Strlic, D. Kocar // Acta Chim. Slov. – 2009. – № 56. – P. 698–703.
16. Gas chromatographic analysis of resveratrol in plasma, lipoproteins and cells after in vitro incubations / D. Blache [et all] // J. Chromatogr. B. – 1997. – № 702. – P. 103–110.
17. Huang, X. Simultaneous analysis of serotonin, melatonin, piceid and resveratrol in fruits using liquid chromatography tandem mass spectrometry / X. Huang, G. Mazza // J. Chromatogr. A. – 2011. – Vol. 1218. – № 25. – P. 3890–3899.
18. Soleas, G.J. Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection / G.J. Soleas, J. Yan, D.M. Goldberg // J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. – 2001. – Vol. 757. – № 1. – P. 161–172.
19. Determination of *trans*-resveratrol in plasma by HPLC / M. Emrilia Juan [et all] // Anal. Chem. – 1999. – № 71. – P. 747–750.
20. Revilla, E. Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by high-performance liquid chromatography – photodiode array detection without sample preparation / E. Revilla, J-M. Ryan // J. Chromatogr. A. – 2000. – № 881. – P. 461–469.
21. Urinary and plasma levels of resveratrol and quercetin in humans, mice, and rats after ingestion of pure compounds and grape juice / X. Meng [et all] // J. Agric. Food Chem. – 2004. – № 52. – P. 935–942.
22. Mannila, E. Stilbenes from *Picea abies* bark / E. Mannila, A. Talvitie // Phytochem. – 1992. – Vol. 31. – № 9. – P. 3288–3289.
23. Anti-allergic activity of stilbenes from Korean rhubarb (*Rheum undulatum* L.): structure requirements for inhibition of antigen-induced degranulation and their effects on the release of TNF-alpha and IL-4 in RBL-2H3 cells / H. Matsuda [et all] // Bioorg. Med. Chem. – 2004. – Vol. 12. – № 18. – P. 4871–4876.
24. Polyphenolic composition of roots and petioles of *Rheum rhaponticum* L. / T. Pussa [et all] // Phytochem. Anal. – 2009. – № 20. – P. 98–103.
25. Comparison of procedures for resveratrol analysis in beer: assessment of stilbenoids stability through wort fermentation and beer aging / V. Jerkovic [et all] // J. Inst. Brew. – 2008. – Vol. 114. – № 2. – P. 143–149.
26. Определение *цис*- и *транс*-ресвератрола методом ВЭЖХ с диодной матрицей в армянских виноградах, винах и винодельческих отходах / Г.Ю. Хачванкян [и др.] // Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез: материалы всероссийской конференции, Краснодар, 26 сентября – 1 октября 2010 г / РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова, Кубанск. гос. ун-т, ЗАО НТЦ «ВиАСеп»; редколл.: О.А. Шпигун [и др.] – Краснодар, 2010. – С. 271 – 272.
27. Определение фитоалексина ресвератрола в местных растительных источниках / И.И. Генералов [и др.] // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 67-й науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 2 – 3 февраля 2012 г / Витебск. гос. мед. ун-т; редколл.: В.П. Дейкало [и др.] – Витебск, 2012. – С. 274–275.
28. Моисеев, Д.В. Разработка и валидация методики определения ресвератрола



трола в *Polygonum tataricum* L. методом ВЭЖХ / Д.В. Моисеев // Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития: материалы II международного науч.-практич. конференции, Москва, 28 декабря 2011 г / М.: «Спутник+», 2012. – С. 130 – 134.

29. Regev-Shoshani, G. Glycosylation of resveratrol protects it from enzymic oxidation / G. Regev-Shoshani // *Biochem. J.* – 2003. – № 374. – P. 157–163.

30. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans / T. Walle [et all] // *Drug Metab. Dispos.* – 2004. – Vol. 32. – P. 1377–1382.

31. Фармакологическая характеристика ресвератрола / Г.В. Васильев [и др.] // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2007. – № 3. – С. 97–104.

32. Antioxidant effects of resveratrol and other stilbene derivatives on oxidative stress and NO bioavailability: Potential benefits to cardiovascular diseases / M. Frombaum [et all] // *Biochimie.* – 2012. – Vol. 94. – № 2. – P. 269–276.

33. Yu, W. Cellular and molecular effects of resveratrol in health and disease / W. Yu, Y.C. Fu, W. Wang // *J. Cell. Biochem.* – 2012. – Vol. 113. – № 3. – P. 752–759.

34. Diet and thrombosis risk: nutrients for prevention of thrombotic disease / M. Phang [et all] // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2011. – Vol. 37. – № 3. – P. 199–208.

35. Cherniack, E.P. Polyphenols: planting the seeds of treatment for the metabolic syndrome / E.P. Cherniack // *Nutrition.* – 2011. – Vol. 27. – № 6. – P. 617–623.

36. Kiselev, K.V. Perspectives for production and application of resveratrol / K.V. Kiselev // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 90. – № 2. – P. 417–425.

37. Petrovski, G. Resveratrol in cardiovascular health and disease / G. Petrovski, N. Gurusamy, D.K. Das // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2011. – № 1215. – P. 22–33.

38. Dipak, K.D. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine / K.D. Dipak, N. Maulik // *Molecular Interventions.* – 2006. – Vol. 6. – Iss. 1. – P. 36–47.

39. Hattori, R. Pharmacological preconditioning with resveratrol: Role of nitric oxide / R. Hattori // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2002. – № 282. – P. H1988–H1995.

40. Cadenas, S. Resveratrol, melatonin, vitamin E, and PBN protect against renal oxidative DNA damage induced by the kidney carcinogen KBrO<sub>3</sub> / S. Cadenas, G. Barja // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – № 26. – P. 1531–1537.

41. Nihei, T. Inhibitory effect of resveratrol on proteinuria, hypoalbuminemia and hyperlipidemia in nephritic rats / T. Nihei, Y. Miura, K. Yagasaki // *Life Sci.* – 2001. – № 68. – P. 2845–2852.

42. Losa, G.A. Resveratrol modulates apoptosis and oxidation in human blood mononuclear cells / G.A. Losa // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2003. – № 33. – P. 818–823.

43. Yen, G.C. Effects of resveratrol and 4-hexylresorcinol on hydrogen peroxide-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes / G.C. Yen, P.D. Duh, C.W. Lin // *Free Radic. Res.* – 2003. – № 37. – P. 509–514.

44. Pendurthi, U.R. Resveratrol, a polyphenolic compound found in wine, inhibits tissue factor expression in vascular cells: A possible mechanism for the cardiovascular benefits associated with moderate consumption of wine / U.R. Pendurthi, J.T. Williams, L.V. Rao // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1999. – № 19. – P. 419–426.

45. Biological activities of polyphenols from grapes / E.Q. Xia [et all] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2010. – № 11. – P. 622–646.

46. Evaluation of the antioxidant potential of natural products / S.K. Lee [et all] // *Comb. Chem. High Throughput Screen.* – 1998. – № 1. – P. 35–46.

47. Martinez, J. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production / J. Martinez, J.J. Moreno // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – № 59. – P. 865–870.

48. Resveratrol and curcumin suppress immune response through CD28/CTLA-4 and CD80 co-stimulatory pathway / S. Sharma [et all] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2006. – № 147. – P. 155–163.

49. Gehm, B.D. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor / B.D. Gehm // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1997. – № 94. – P. 14138–14143.

50. Lu, R. Resveratrol, a natural product derived from grape, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells / R. Lu, G.J. Serrero // *Cell Physiol.* – 1999. – № 179. – P. 297–304.

51. Bowers, J.L. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta / J.L. Bowers // *Endocrinology*. – 2000. – № 141. – P. 3657–3667.
52. Resveratrol, an effective regulator of ovarian development and oocyte apoptosis / X.X. Kong [et all] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2011. – Vol. 34. – № 11. – P. 374–381.
53. Rayalam, S. Synergism between resveratrol and other phytochemicals: implications for obesity and osteoporosis / S. Rayalam, M.A. Della-Fera, C.A. Baile // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2011. – Vol. 55. – № 8. – P. 1177–1185.
54. Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro / Z. Wang [et all] // *Int. J. Mol. Med.* – 2002. – № 9. – P. 77–79.
55. Pinto, M.C. Resveratrol is a potent inhibitor of the dioxygenase activity of lipoxygenase / M.C. Pinto, J.A. Garcia-Barrado, P. Macias // *J. Agric. Food Chem.* – 1999. – № 47. – P. 4842–4846.
56. Pace-Asciak, C.R. The red wine phenolics *trans*-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease / C.R. Pace-Asciak // *Clin. Chim. Acta.* – 1995. – № 235. – P. 207–219.
57. Borra, M.T. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol / M.T. Borra, B.C. Smith, J.M. Denu // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – № 17. – P. 17187–17195.
58. Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol / M. Kaeberlein [et all] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – № 17. – P. 17038–17045.
59. SIRT1 as a potential therapeutic target for treatment of nonalcoholic fatty liver disease / Y. Colak [et all] // *Med. Sci. Monit.* – 2011. – Vol. 17. – № 5. – P. HY5–HY9.
60. Vetterli, L. Resveratrol-activated SIRT1 in liver and pancreatic  $\beta$ -cells: a Janus head looking to the same direction of metabolic homeostasis / L. Vetterli, P. Maechler // *Aging (Albany NY)*. – 2011. – Vol. 3. – № 4. – P. 444–449.
61. Sundaresan, N.R. Emerging roles of SIRT1 deacetylase in regulating cardiomyocyte survival and hypertrophy / N.R. Sundaresan, V.B. Pillai, M.P. Gupta // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2011. – Vol. 51. – № 4. – P. 614–618.
62. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes / M. Jang [et all] // *Science*. – 1997. – Vol. 275. – P. 218–220.
63. ElAttar, T.M. Modulating effect of resveratrol and quercetin on oral cancer cell growth and proliferation / T.M. ElAttar, A.S. Virji // *Anticancer Drugs*. – 1999. – № 10. – P. 187–193.
64. Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential / S. Caltagirone [et all] // *Int. J. Cancer*. – 2000. – № 87. – P. 595–600.
65. Pharmacologic preconditioning with resveratrol: An insight with iNOS knockout mice / G. Imamura [et all] // *Am. J. Physiol.* – 2002. – № 282. – P. H1996–H2003.
66. Hung, L.M. Resveratrol protects myocardial ischemia-reperfusion injury through both NO-dependent and NO-independent mechanisms / L.M. Hung, M.J. Su, J.K. Chen // *Free Radic. Biol. Med.* – 2004. – № 36. – P. 774–781.
67. Resveratrol depresses the growth of colorectal aberrant crypt foci by affecting bax and p21 expression / L. Tessitore [et all] // *Carcinogenesis*. – 2000. – № 21. – P. 1619–1622.
68. Mechanisms regulating enhanced human leukocyte antigen class II-mediated CD4 + T cell recognition of human B-cell lymphoma by resveratrol / F.F. Radvan [et all] // *Leuk. Lymphoma*. – 2012. – Vol. 53. – № 2. – P. 305–314.
69. Khan, S.I. Epigenetic events associated with breast cancer and their prevention by dietary components targeting the epigenome / S.I. Khan // *Chem. Res. Toxicol.* – 2012. – Vol. 25. – № 1. – P. 61–73.
70. Potential utility of natural products as regulators of breast cancer-associated aromatase promoters / S.I. Khan [et all] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 91.
71. Araújo, J.R. Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines / J.R. Araújo, P. Gonçalves, F. Martel // *Nutr. Res.* – 2011. – Vol. 31. – № 2. – P. 77–87.
72. Van Poppel, H. Chemoprevention of prostate cancer with nutrients and supplements / H. Van Poppel, B. Tombal // *Cancer Manag. Res.* – 2011. – № 3. – P. 91–100.
73. Resveratrol: a review of pre-clinical studies for human cancer prevention / M. Athar [et all] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 224. – № 3. – P. 274–283.
74. Huang, X. Resveratrol and its ana-

- logues: promising antitumor agents / X. Huang, H.L. Zhu // *Anticancer Agents Med. Chem.* – 2011. – Vol. 11. – № 5. – P. 479–490.
75. Chemosensitization of tumors by resveratrol / S.C. Gupta [et all] // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2011. – № 1215. – P. 150–160.
76. Resveratrol and apoptosis / H.Y. Lin [et all] // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2011. – № 1215. – P. 79–88.
77. Delmas, D. Resveratrol, a phytochemical inducer of multiple cell death pathways: apoptosis, autophagy and mitotic catastrophe / D. Delmas, E. Solary, N. Latruffe // *Curr. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 18. – № 8. – P. 1100–1121.
78. Apoptosis in skeletal myocytes: a potential target for interventions against sarcopenia and physical frailty – a mini-review. / E. Marzetti [et all] // *Gerontology.* – 2011.
79. Resveratrol suppresses apoptosis in intact human cardiac tissue – in vitro model simulating extracorporeal circulation / E. Usta [et all] // *J. Cardiovasc. Surg.* – 2011. – Vol. 52. – № 3. – P. 399–409.
80. Nutritional approaches to modulate oxidative stress in Alzheimer's disease / C.B. Pocernich [et all] // *Curr. Alzheimer Res.* – 2011. – Vol. 8. – № 5. – P. 452–469.
81. Howes, M.J. The role of phytochemicals in the treatment and prevention of dementia / M.J. Howes, E. Perry // *Drugs Aging.* – 2011. – Vol. 28. – № 6. – P. 439–468.
82. Huber, K. After the grape rush: sirtuins as epigenetic drug targets in neurodegenerative disorders / K. Huber, G. Supert-Furga // *Bioorg. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 19. – № 12. – P. 3616–3624.
83. Neuroprotective properties of resveratrol and derivatives / T. Richard [et all] // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2011. – № 1215. – P. 103–108.
84. Shetty, A.K. Promise of resveratrol for easing status epilepticus and epilepsy / A.K. Shetty // *Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 131. – № 3. – P. 269–286.
85. Chan, M.M. Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin / M.M. Chan // *Biochem. Pharmacol.* – 2002. – № 63. – P. 99–104.
86. Inhibition of swarming and virulence factor expression in *Proteus mirabilis* by resveratrol / W.B. Wang [et all] // *J. Med. Microbiol.* – 2006. – № 55. – P. 1313–1321.
87. Mahady, G.B. Resveratrol and red wine extracts inhibit the growth of CagA+ strains of *Helicobacter pylori* in vitro / G.B. Mahady, S.L. Pendland, L.R. Chadwick // *Am. J. Gastroenterol.* – 2003. – № 98. – P. 1440–1441.
88. Mahady, G.B. Resveratrol inhibits the growth of *Helicobacter pylori* in vitro / G.B. Mahady, S.L. Pendland // *Am. J. Gastroenterol.* – 2000. – № 95. – P. 1849.
89. Resveratrol, a natural stilbene in grapes and wine, enhances intraphagocytosis in human promonocytes: a co-factor in anti-inflammatory and anticancer chemopreventive activity / A.A. Bertelli [et all] // *Int. J. Tissue React.* – 1999. – № 21. – P. 93–104.
90. Resveratrol modulates phagocytosis of bacteria through an NF- $\kappa$ B-dependent gene program / M. Iyori [et all] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2008. – Vol. 52. – № 1. – P. 121–127.
91. Wang, L.X. Resveratrol glucuronides as the metabolites of resveratrol in humans: characterization, synthesis, and anti-HIV activity / L.X. Wang // *J. Pharm. Sci.* – 2004. – № 10. – P. 2448–2457.
92. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health [Electronic resource] Mode of access: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=resveratrol&pg=1>. – Date of access: 14.02.2012.

**Адрес для корреспонденции:**

210023, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,  
Витебский государственный  
медицинский университет,  
кафедра клинической микробиологии,  
эл. почта: oam30@km.ru  
Моисеева А.М.

Поступила 20.02.2012 г.